强化生物除磷系统中胞外聚合物的特性

王然登[1],程战利[1],彭永臻[1,2*],王淑莹[2] (1.哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室,黑龙江 哈尔滨 150090；2.北京工业大学,北京市水质科学与水环境恢复工程重点实验室,北京市脱氮除磷处理与过程控制工程技术研究中心,北京 100124)

摘要：胞外聚合物(EPS)在生物除磷过程中具有蓄磷能力,为进一步明确生物除磷系统中的EPS特性,以不具有明显除磷能力的全程好氧活性污泥系统(R1)的EPS作为对比,考察了具有良好除磷效果的厌氧/好氧交替下的强化生物除磷系统(R2)中EPS的理化特性.结果表明,相对于R1中的EPS主成分在一个周期内的不固定,R2中的蛋白质含量一直明显高于多糖含量;两者的主要荧光物质均为类蛋白质和类富里酸,但在好氧末期R2中类蛋白质的荧光强度高于R1; R1的EPS中Ca^{2+}> Mg^{2+},而在R2中, Mg^{2+}>Ca^{2+},同时R1中的Ca^{2+}含量平均值为8.67mg/gMLSS,大于R2中Ca^{2+}的平均值2.40mg/gMLSS;在好氧末期,R2中的TP为21.65mg/gMLSS,明显高于R1中的TP含量(13.83mg/g−MLSS).此外,R1和R2的zeta电位平均值分别为−36mV和−25mV.由此可见, EBPR系统中的EPS具有与全程好氧活性污泥中的EPS不同的特征.

关键词：强化生物除磷；胞外聚合物；三维荧光激发-发射光谱；金属离子；zeta电位

中图分类号：X703.1 **文献标识码**：A **文章编号**：1000−6923(2014)11−2838−06

Characteristics of EPS taken from an enhanced biological phosphorus removal system. WNAG Ran-deng[1], CHENG Zhan-li[1], PENG Yong-zhen[1,2*], WANG Shu-ying[2] (1.State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China；2.Key Laboratory of Beijing for Water Quality Science and Water Environment Recovery Engineering, Engineering Research Center of Beijing, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China). *China Environmental Science*, 2014,34(11)：2838~2843

Abstract：EPS could act as a reservoir for phosphorus in biological phosphorus removal process. To better understand the physicochemical properties of EPS in the biological phosphorus removal system, two types of EPS taken from the systems that operated complete aerobically with little phosphorus removal ability (R1) and alternative anaerobically/aerobically with excellent phosphorus removal efficiency (R2) were studied. Results showed that protein was predominant in the EPS of R2, while the EPS from R1 was dominated by polysaccharides. Protein-like fluorophores and fulvic acid-like fluorophores were the main EEM spectra in both EPS types, whereas the fluorescence intensity of protein-like substances in R2 was higher than that of R1 at the end of aerobic phase. The content of Ca^{2+} was higher than Mg^{2+} in R1, while it was opposite in R2. Meanwhile, the average value of Ca^{2+} in R1 was 8.67mg/g-MLSS, higher than that of R2 (2.40mg/gMLSS) and the TP contents of R2 (21.65mg/gMLSS) was much higher than that in R1 (13.83mg/gMLSS) at the end of aeration. In addition, the zeta potential of R1 (−35mV) was more negative than that in R2 (−23mV).These results demonstrated that the characteristics of EBPR system was different from the complete-aerobic sludge system.

Key words：enhanced biological phosphorons removal；extracellular pohymeric substances；three-dimensional excitation-emission matrix；metal cations；zeta potential

强化生物除磷(EBPR)工艺采用厌氧/好氧的方式运行,以系统中富集的聚磷菌(PAOs)所具有的“超量”吸磷特性来达到将污水中磷去除的目的,因其经济性和高效性在污水处理厂得到了广泛的应用[1].PAOs 的生化反应过程包括:1)厌氧条件下,PAOs 利用体内多聚磷酸盐(Me−polyP, Me主要为K^+,Mg^{2+},Ca^{2+})分解所释放的能量及糖

收稿日期：2014−02−28

基金项目：国家“863”项目

* 责任作者，教授, pyz@bjut.edu.cn

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

原所提供的还原力吸收溶液中的挥发酸(VFA)并将其转化为聚羟基丁酸盐(PHA),同时 Me-polyP 分解所产生的 $MeHPO_4/MeH_2PO_4$ 被转移到体外,表现为,溶液中的 COD 降低,正磷酸盐(Pi)和 K^+,Mg^{2+},Ca^{2+}含量增加;2)好氧条件下, PAOs 体内储存的PHA氧化分解产生能量,将污水中的 Pi 及 K^+,Mg^{2+},Ca^{2+}吸收到体内并合成 Me-polyP,从而去除污水中磷[2].

细菌的胞外聚合物(EPS)作为污水生物处理系统污泥中的重要组成部分,具有维持絮体污泥及颗粒污泥结构的稳定性,对系统的处理效果具有重要的作用[3].通常关于 EPS 特性的研究主要集中在 EPS 的组成成分及含量比例、荧光光谱特性和带电性,以及这些特性的改变对絮体污泥的沉降性,颗粒污泥的形成情况及膜组件的污染情况的影响[4].研究发现 EPS 中主要以多糖和蛋白质为主,多糖和蛋白质的比例变化可能会影响到 EPS 的疏水性及带电性,改变污泥的物理特性[5].近年来一些研究发现在生物除磷系统中污泥的EPS中贮存有一定量的磷,认为除PAOs对P的去除作用外, EPS 对 P 也有一定的去除[6-7].目前针对EBPR系统中EPS特性的研究较少, 鉴于生物除磷独特的生化反应过程,其中的 EPS 特性也会有所不同,因此有必要对生物除磷系统中 EPS 的理化特性进行深入研究.本研究以不具有明显除磷能力的全程好氧活性污泥系统为参照,考察了具有良好除磷效果的 EBPR 系统中的 EPS 的理化特性,以期为 EBPR 系统中 EPS 的特性研究提供更全面的信息.

1　材料与方法

1.1　试验装置及运行方式

采用两个相同构型的小试 SBR 反应器(R1,R2),反应器为有机玻璃圆柱体,高 400mm,直径 150mm,总容积为 6L.两个反应器每周期 6h,每天运行 4 个周期,每周期进水 3L,周期末排水 3L.R1 的运行方式为全程好氧(295min),R2 以厌氧(85min)/好氧(210min)交替的方式运行,进水时间均为 5min,沉淀 30min、排水 10min、静置 10min.由时间控制器控制反应器具体的运行程序.每天在第二个周期末排出泥水混合物 100mL.全程采用搅拌器进行混合搅拌,转速为 150~180r/min.曝气采用微孔曝气砂头进行,曝气量控制在 $0.16m^3/h$.温度控制在(23±2)℃.

1.2　试验用水及接种污泥

采用人工模拟废水作为反应器进水.进水以丙酸钠和乙酸钠作为碳源,氯化铵作为氮源,磷酸二氢钾作为磷源,硫酸镁和无水氯化钙分别作为镁源和钙源.每升配水中各个成分的投加量及相应的指标浓度如表 1 所示.同时每升水中加入 1mL 的微量元素液[8].接种污泥取自哈尔滨市某城市污水处理厂.

表 1　试验模拟废水成分含量及指标浓度

Table 1　Quantity and concentration of synthetic wastewater in the experiment

成分	投加量(g/L)	指标	浓度(mg/L)
丙酸钠/乙酸钠	0.384/0.246	COD	584
NH_4Cl	0.0112	NH_4^+-N	30
KH_2PO_4	0.044	PO_4^{3-}-P	10
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.08	Mg^{2+}	7.8
$CaCl_2$	0.0285	Ca^{2+}	10.27
$NaHCO_3$	0.4275		

1.3　检测指标及分析方法

1.3.1　常规指标的测定　MLSS、SVI 及水溶液中 PO_4^{3-}-P 的测定采用国家标准测定方法[9].

1.3.2　EPS 的提取及测定　EPS 的提取采用热提取法,具体方法参考蔡春光等[10]的研究,在一个周期的不同反应阶段取 10mL 污泥混合液,在 4℃,2000*g* 下离心 10min,弃去上清液后,加入去离子水至原体积,混合均匀后将混合液 80℃恒温水浴中 60min,每隔一段时间摇晃一下.加热结束后 12000*g* 离心 10min.离心后的上清液经 0.45μm 的滤膜过滤,过滤后的上清液作为提取后的 EPS 溶液进行成分测定分析.

EPS 中多糖的测定采用苯酚-硫酸法[11],蛋白质的测定采用修订的 Lowery 法[12].

1.3.3　离子的测定　EPS 溶液中 Ca^{2+}、Mg^{2+}及 TP 的测定采用电感耦合等离子体发射光谱仪(Perkin Elmer, Wellesley, MA, USA, Optima

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2000).

1.3.4 三维荧光光谱分析 对于 EPS 中荧光物质的测定采用日立 FP-6500 三维荧光光谱仪进行,激发光以 5nm 为间隔在 220~450nm 光谱范围内进行扫描,发射光以 1nm 为间隔在 250~ 600nm 的光谱范围内进行扫描.

1.3.5 Zeta 电位的测定 Zeta 电位的测定采用 zeta 电位测定仪(Zetasizer 2000, Malvern, UK).

2 结果与讨论

2.1 反应器的运行情况

如图 1 所示,一个稳定周期内 R1 溶液中的 PO_4^{3-}-P 的浓度一直在 12mg/L 左右波动,反应末期出水中的 PO_4^{3-}-P 的浓度为 11.63mg/L,系统几乎没有除磷能力,这是因为 R1 全程好氧,不具有富集 PAOs 的优势运行条件.而 R2 中厌氧/好氧的运行方式与 PAOs 的代谢特性相符,有利于富集 PAOs,溶液中的 PO_4^{3-}-P 的浓度表现为厌氧段增加,好氧段减少的趋势.厌氧末溶液中 PO_4^{3-}-P 达到了 75.47mg/L,好氧 90min 后溶液中的 PO_4^{3-}-P 含量降低为 0.3mg/L,好氧末期出水中几乎没有 PO_4^{3-}-P 的存在.R1 和 R2 系统分别具有了全程好氧的活性污泥特征和良好的 EBPR 污泥特征,具备了本研究所需要的条件.

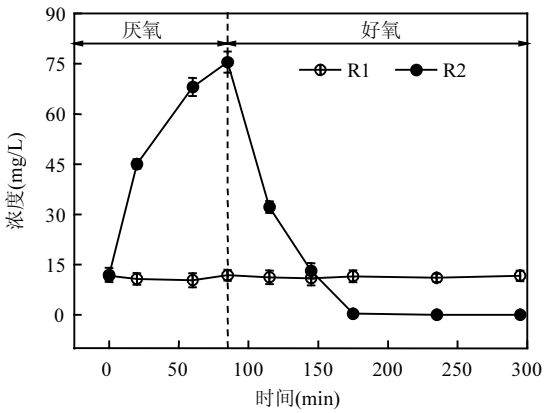

图 1 一个周期内 R1 和 R2 溶液中的 PO_4^{3-}-P 的变化情况

Fig.1 Variations of PO_4^{3-}-P concentration in R1 and R2 solution during one cycle

2.2 EPS 中多糖和蛋白质含量的对比

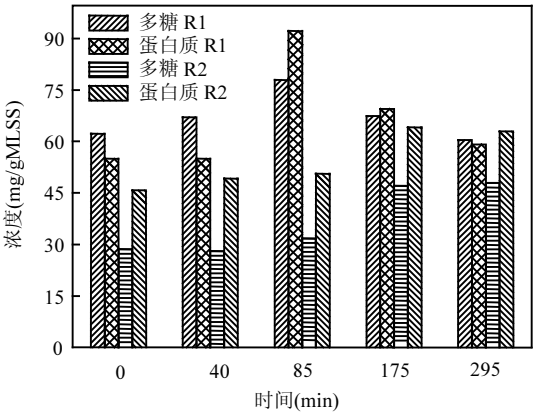

图 2 R1 和 R2 中一个周期内 EPS 中多糖和蛋白质的变化情况

Fig.2 Variations of protein and polysaccharides in EPS from R1and R2 during one cycle

为对比研究 R1 和 R2 系统中的 EPS 特征,对 R1 和 R2 两个系统稳定周期内污泥中 EPS 的变化情况进行了测定.如图 2 所示,整体上 R1 中的 EPS 主成分(多糖和蛋白质)不固定,而 R2 中 EPS 的蛋白质含量明显高于多糖含量.一个周期内的具体变化情况为,在 R1 的反应初期,EPS 中的蛋白质含量(54.95mg/gMLSS)低于多糖含量(62.22mg/gMLSS),在 40min 时多糖的含量稍有增加,在 85min 时,多糖和蛋白质的含量均明显增加,分别为 77.90,92.17mg/gMLSS,此时,蛋白质的含量高于了多糖的含量.此后两者的含量均有所减少,到反应末期,蛋白质的含量为 59.08mg/gMLSS,略低于多糖的量 60.42mg/gMLSS. R1 中整个周期内 EPS 变化情况可能与微生物在饱食情况下分泌 EPS,而在饥饿条件下消耗 EPS 有关.而在整个周期内 R2 中蛋白质的含量一直高于多糖含量,厌氧末期(85min),多糖和蛋白质的含量分别为 31.75,50.58mg/gMLSS,相对于反应初期只有少量的增加,此后好氧段的多糖和蛋白质含量有了明显的增加,反应末期多糖和蛋白质的含量分别为 47.93,62.89mg/gMLSS.由此可见,R1 和 R2 两个系统中的 EPS 在一个周期内的变化情况不同.由于 R2 系统具有良好的生物除磷效果,而 EBPR 过程 EPS 作为细胞体与水溶液进行离子(Ca^{2+},Mg^{2+},K^+,各种形态的磷)传递的通道,离子

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

的转移过程需要更多转移蛋白,或需要一些酶参与聚磷酸盐在体外的后期的分解或初步合成反应等,故而会有更多的蛋白质分泌到体外 EPS 中参与转移过程.

2.3　EPS 的三维荧光特性的对比

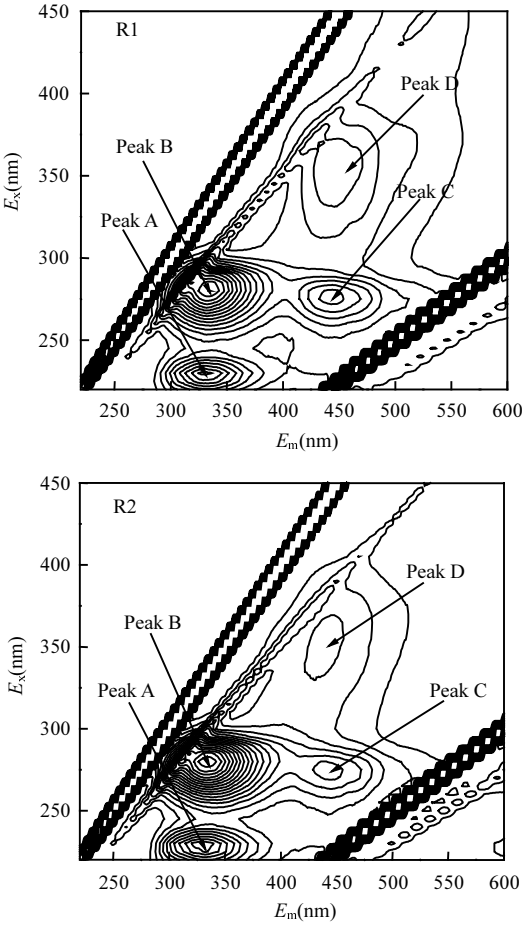

图 3　R1 和 R2 中 EPS 的三维荧光光谱特性对比

Fig.3　3D EEM spectra of EPS from R1 and R2

由图 3 可知, R1 和 R2 反应末期的 EPS 三维荧光光谱中都有 3 个明显的荧光峰,其中,Peak A: E_x/E_m=225~240/340~350(类蛋白荧光峰), Peak B: E_x/E_m=260~290/300~350(色氨酸类荧光峰),这两种荧光峰与胞外聚合物中的芳环氨基酸结构有关; Peak C: E_x/E_m=240~300/420~470(类富里酸荧光峰),Peak D:E_x/E_m=330~360/400~450(类胡敏酸荧光峰),与 EPS 中的羧基和羰基结构有关[13].这说明,虽然 R1 和 R2 的运行情况不同,但其 EPS 中的组分和物质结构是基本相同的.从各荧光峰的荧光强度看,两者中的荧光物质主要成分均为类蛋白质物质,其次为类富里酸.但 R2 中类蛋白质荧光峰所对应的荧光强度要高于 R1 中 EPS 所对应的荧光强度,说明 R2 中 EPS 所含有的荧光物质浓度更高.这与上文 R1 和 R2 在好氧末期 EPS 中的蛋白质含量大小相符合.此外在强化生物除磷系统的 EPS 中的富里酸荧光峰的强度低于全程好氧系统中 EPS 的荧光强度,关于这一现象还没有相关的报道,至于富里酸在强化生物除磷系统中的作用还有待进一步深入研究.

2.4　EPS 中 Ca^{2+},Mg^{2+}和 TP 含量的对比

由图 4 可见,在整个周期内 R1 的 EPS 中的 Mg^{2+}变化并不明显,而 Ca^{2+}在反应前期逐渐增加,在 85min 时达到最高(Ca^{2+}=13.31mg/gMLSS, Mg^{2+}=3.05mg/gMLSS),此时也是 EPS 含量最多的时期(图 2),也就是说 Ca^{2+}会随着 EPS 含量的增加而增加,而 Mg^{2+}只有微弱的增加.在此后的反应过程中 Ca^{2+}和 Mg^{2+}的浓度逐渐降低,分别为 5.78,2.16mg/gMLSS,TP 的含量为 13.83mg/gMLSS.在整个变化过程中 Ca^{2+}的含量一直高于 Mg^{2+}.这可能与进水中的 Ca^{2+}浓度大于 Mg^{2+}浓度有关,因为 EPS 对金属离子具有一定的吸附作用,且金属离子在 EPS 具有架桥作用可维持 EPS 的三维空间结构构型.在 R2 中前 85min 内(厌氧段),EPS 中的 Ca^{2+}, Mg^{2+}和 TP 的含量几乎没有变化,厌氧末它们的含量分别为 2.02,2.34, 12.13mg/gMLSS.在接下来的好氧段,EPS 中的 Ca^{2+},Mg^{2+}的量均有所增加,分别为 2.89,4.28mg/gMLSS, TP 的含量可达到 21.65mg/gMLSS.在整个变化过程中 Ca^{2+}的含量始终低于 Mg^{2+}的含量.通常,活性污泥系统的 EPS 中的 Ca^{2+}浓度高于 Mg^{2+}[14-15],而该 EBPR 系统 EPS 中的 Mg^{2+}含量却高于 Ca^{2+},其背后的原因可能与 PAOs 的代谢过程有关,PAOs 代谢过程中 Mg^{2+}的需要量大于 Ca^{2+}[16],而 $MeHPO_4$ 的释放及吸收都要经过 EPS 转移到细胞外或进入到细胞内,此过程中可能会有部分 Me 被截留在了 EPS 中,由于 $MgHPO_4$ 的量大于 $CaHPO_4$,那么 Mg^{2+}的截留量可能会高于 Ca^{2+}.同时这也可能与 EBPR 系统中 EPS 的特性

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

有关,如 EBPR 系统中 EPS 的主成分为蛋白质,其含量明显高于多糖,而全程好氧的活性污泥系统中 EPS 以多糖为主.另外,R1 中的 Ca^{2+}含量平均值为 8.67mg/gMLSS,大于 R2 中 Ca^{2+}含量的平均值 2.40mg/gMLSS,这表明 Ca^{2+}在两个系统中的作用有所不同,或由于两个系统中的 EPS 的成分含量不同,其对 Ca^{2+}的吸附量也不同.确切原因还需后期进一步的研究.同时,在好氧末期 EPS 中储存的 P 含量为 21.65mg/gMLSS,明显高于 R1 中的 TP 含量(13.83mg/gMLSS).由此表明,EBPR 系统中好氧段有一部分 P 聚集在了 EPS 中,而不是完全转移到聚磷菌细胞体内.

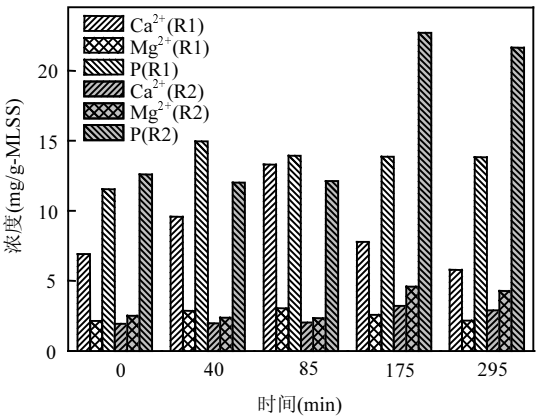

图 4 R1 和 R2 中 EPS 内的 Ca^{2+},Mg^{2+}和 P 的情况

Fig.4 The contents of Ca^{2+}, Mg^{2+} and P in the EPS matrix from R1 and R2

2.5 EPS 的 zeta 电位在一个周期内的变化情况

EPS 是包裹在微生物表面的一种黏性物质,其 zeta 电位的高低会改变微生物之间的静电斥力,影响到微生物之间的聚集特性[17].由图 5 可以看出,两个系统中的 zeta 电位均呈负值, R1 的 zeta 电位平均值为−35mV,明显低于 R2 的 zeta 电位平均值(−23mV).由于蛋白质中氨基基团带有正电荷,可以中和一些多糖中的羟基和磷酸根基团所带的负电荷[18],王浩宇等[19]研究也发现 zeta 电位与 EPS 中的蛋白质/多糖的比值呈正相关.而本研究中 R2 的蛋白质/多糖比值大于 R1 中的蛋白质/多糖比值,这与 R2 的 zeta 电位高于 R1 的测定结果相一致.由于电位的差别,与 R1 相比,R2 中 EPS 将降低污泥表面的静电斥力有利于污泥之间的聚集. 本试验中 R1 和 R2 中的污泥容积指数分别为 108,67mL/g.由此看来,EBPR 系统中的污泥聚集特性更好一些,这可能是由于该系统中的 EPS 中以蛋白质为主,且其 zeta 电位值较高,有利于污泥的聚集.

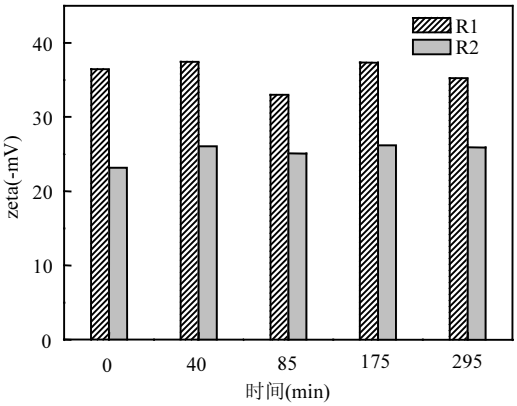

图 5 R1 和 R2 中 EPS 的 zeta 电位

Fig.5 Zeta potential of EPS from R1 and R2

3 结论

3.1 EBPR 系统中的 EPS 主成分比较稳定,以蛋白质为主,其中的主要荧光物质为类蛋白质和类富里酸.

3.2 EBPR 系统的 EPS 中 Mg^{2+}含量高于 Ca^{2+},其中的 Ca^{2+}含量相对较低,且其中积聚有一定的磷,好氧末 EPS 中的 TP 含量为 21.65mg/g−MLSS;

3.3 EBPR 系统中 EPS 的 zeta 电位为−23mV,污泥 SVI 为 67mL/g,其污泥聚集沉降性能优于全程好氧不具有明显生物除磷能力的系统.

参考文献:

[1] Oehmen A, Lemos P C, Carvalho G, et al. Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale [J]. Water Research, 2007,41:2271−2300.

[2] van Veen H W, Abee T, Kortstee G J J, et al. Generation of a proton motive force by the excretion of metal−phosphate in the polyphosphate−accumulating *Acinetobacter johnsonii* strain 210A [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1994,269(47):29509−29514.

[3] 倪丙杰,徐得潜,刘绍根.污泥性质的重要影响物质−胞外聚合物

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(EPS) [J]. 环境科学与技术 [J], 2006,29(3):108-110.

[4] Raszka A, Chorvatova M. Wanner J. The role and significance of extracellular polymers in activated sludge. Part I: literature review [J]. Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, 2006,34:411-424.

[5] Arabi S and Nakhla G. Impact of protein/carbohydrate ratio in the feed wastewater on the membrane fouling in membrane bioreactors [J]. Journal of Membrane Science, 2008,324:142-150.

[6] Li N, Ren N Q, Wang X H, et al. Effects of temperature on intracellular phosphorus absorption and extra-cellular phosphorus removal in EBPR process [J]. Bioresource Technology, 2010, 28(9):1758-1762.

[7] Zhang H L, Fang W, Wang Y P, et al. Phosphorus removal in an enhanced biological phosphorus removal process: roles of extracellular polymeric substances [J]. Environmental Science and Technology, 2013,47:11482-11489.

[8] Saito T, Brdjanovic D, van Loosdrecht M C M, et al. Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms [J]. Water Research, 2004,38:3760-3768.

[9] 国家环保总局《水和废水监测分析方法》编委会.水和废水监测分析方法 [M]. 4 版.北京:中国环境科学出版社, 2003.

[10] 蔡春光,刘军深,蔡伟民.胞外多聚物在好氧颗粒化中的作用机理 [J]. 中国环境科学, 2004,24(5):623-626.

[11] Adav S S, Lee D J. Extraction of extracellular polymeric substances from aerobic granule with compact interior structure [J]. Journal of Hazardal Material, 2008,154:1120-1126.

[12] Frølund B, Keiding K, Nielsen P H. Enzymatic activity in the activated sludge flocs matrix. [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1995,43(4):755-761.

[13] 高景峰,郭建秋,陈冉妮,等.三维荧光光谱结合化学分析评价胞外多聚物的提取方法 [J]. 环境化学, 2008,27(5):662-668.

[14] Yu G H, He P J, Shao L M. Characteristics of extracellular polymeric substances (EPS) fractions from excess sludges and their effects on bioflocculability [J]. Bioresource Technology, 2009, 100:3193-3198.

[15] Bourven I, Joussein E, Guibaud G. Characteristics of the mineral fraction in extracellular polymeric substances (EPS) from activated sludges extracted by eight different methods [J]. Bioresource Technology, 2011,102:7124-7130.

[16] Choi H J, Yu S W, Lee S M. Effects of potassium and magnesium in the enhanced biological phosphorus removal process using a membrane bioreactor [J]. Water Environment Research, 2011,83: 613-621.

[17] Wang L L, Wang L F, Ren X M, et al. pH dependence of structure and surface properties of microbial EPS [J]. Environmental Science and Technology, 2012,46:737-744.

[18] Wang Z P, Liu L L, Yao J, et al. Effects of extracellular polymeric substances on aerobic granulation in sequencing batch reactors [J]. Chemosphere, 2006,63:1728-1735.

[19] 王浩宇,苏本生,黄 丹,等.好氧污泥颗粒化过程中 Zeta 电位与 EPS 的变化特性 [J]. 环境科学, 2012,33(5):1614-1620.

作者简介：王然登(1985-),女,河南洛阳人,哈尔滨工业大学博士研究生,主要从事污水生物除磷及好氧颗粒污泥研究.发表论文 4 篇.

《中国环境科学》获评“2012 中国最具国际影响力学术期刊”

2012 年 12 月,《中国环境科学》被评为“2012 中国最具国际影响力学术期刊”.

“中国最具国际影响力学术期刊”是中国科学文献计量研究中心、清华大学图书馆依据《CAJ 国际引证报告》,按 2011 年度中国学术期刊被 SCI 期刊、SSCI 期刊引用的总被引频次排序并经 40 多位期刊界专家审议,遴选出的 TOP5%期刊.获评“中国最具国际影响力学术期刊”的科技类期刊共 156 种.统计分析结果表明,从定量分析的角度看,“中国最具国际影响力学术期刊”的国际影响力已经达到国际中等以上水平,跨入了国际品牌学术期刊行列.

《中国环境科学》编辑部

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net